Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 2, June. July. 2018, p. 399- 410

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 2، خرداد- تیر 1397 ص 410- 399

اثر فرمولاسیون نانولیپوزوم‌های مختلف بر درون‌پوشانی و پایداری کورکومین

مریم رواقی[1*] - آناماریا فدا[2]

تاریخ دریافت: 1395/10/21
تاریخ پذیرش: 1396/06/04

چکیده

کورکومین ماده‌ای هیدروفوب است که به علت ناپایداری در شرایط فیزیولوژیکی و جذب پایین، به سرعت از بدن دفع شده و دسترسی زیستی پایینی دارد. در این پژوهش به‌منظور تثبیت ساختار فسفولیپید، حفاظت از لیپوزوم‌ها و بهبود پایداری کورکومین در شرایط روده‌ای از فرمولاسیون‌های حاوی فسفولیپید (S75 و P90G)، سدیم هیالورونات و اودراجیت (S100 و L100) استفاده شد. نتایج نشان داد که P90G در مقایسه با S75 لیپوزوم‌هایی بسیار کوچک (10±130 نانومتر) با شاخص پراکندگی پایین (0/03±0/17) ایجاد کرد در حالی که افزودن هیالورونان و اودراجیت به افزایش معنی‌دار این مقادیر منجر گردید. لیپوزوم‌های حاوی اودراجیت، دارای اشکال کروی و بیضی شکل چند لایه یا تک لایه بزرگ با میانگین اندازه 400-300 نانومتر بودند، طوری‌که برخی از آنها، تعدادی وزیکول کوچک‌تر را در درون خود محبوس کرده بودند. لیپوزوم‌های تولید شده با هر دو نوع اودراجیت، بازده درون‌پوشانی بالا (بیش از 80 درصد) بلافاصله پس از تولید داشتند، به علاوه در این نمونه‌ها حین نگهداری کاهش معنی‌داری نیز مشاهده نگردید. لیپوزوم‌های حاوی اودراجیت S100 دارای اندازه کوچک‌تری (31±287 نانومتر) در مقایسه با نمونه حاوی اودراجیت L100 (33±407 نانومتر) بلافاصله پس از تولید بوده، به علاوه پایداری خود را حین نگهداری حفظ کرد. تثبیت لیپوزوم‌ها در شبکه پلیمری هیالورونان- اودراجیت منجر به افزایش پایداری آنها در برابر شرایط سخت گوارشی مانند قدرت یونی و تغییرات pH شد؛ بدین ترتیب لیپوزوم‌های حاوی اودراجیت S100 با داشتن فاکتورهای ابعادی مناسب و پایداری مطلوب جهت بارگذاری و انتقال مقادیر بالای کورکومین انتخاب گردید.

واژه‌های کلیدی: اودراجیت، کورکومین، لیپوزوم.

مقدمه

در چند دهه اخیر با افزایش جمعیت و نیاز به تولید مواد غذایی بیشتر، گرایش روزافزونی به استفاده از مواد افزودنی مانند رنگدانه‌ها گزارش شده است (تیزچنگ و همکاران، 1394). کورکومین جزء اصلی ادویه زردچوبه است که به‌طور متداول از ریزوم‌های این گیاه (*Curcuma longa*) تولید می‌شود (Tayyem *et al*., 2006). این پلی‌فنل از دیرباز در آسیا به‌عنوان مکمل غذایی و همچنین در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفت (Hatcher *et al*., 2008). پژوهش‌های اخیر در این زمینه حاکی از اثرات سودمند این ماده آبگریز در جلوگیری از سرطان، کاهش سطح کلسترول خون، افزایش عملکرد ایمنی، کاهش آرتروز، خاصیت ضدالتهاب، جلوگیری از پیری زودرس، حفاظت در برابر استرس اکسیداتیو، کاهش بیماری‌های قلبی- عروقی و عصبی و حفاظت در برابر آلزایمر است (حسینی و همکاران، 1390). امروزه محصولات بر پایه کورکومین به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ایمنی مصرف در کاربردهای غذایی، به عنوان مکمل‌های رژیمی به فروش می‌رسند (Maheshwari *et al*., 2006).

کورکومین قابلیت حل شدن ضعیفی در آب دارد و تحت شرایط فیزیولوژیکی بدن به ندرت پایدار می‌ماند، جذب کافی در بدن نداشته و به سرعت از بدن دفع می‌شود، از این رو دسترسی زیستی پایینی در بدن دارد (Patra *et al*., 2013). این ماده علی‌رغم نقاط ضعف ذکر شده، فعالیت بالایی در محیط آزمایشگاهی از خود نشان می‌دهد و از این‌رو به‌عنوان عامل دارویی خصوصاً در تولید نانوداروها به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است. در سال‌های اخیر، تلاش‌های فراوانی از سوی محققان جهت افزایش دسترسی زیستی این ماده در مصرف خوراکی و استفاده از فواید سلامت‌بخشی آن صورت گرفته است. مصرف خوراکی کورکومین با به‌کارگیری حامل‌های جدید جهت انتقال و تجمع این ماده در روده و همچنین

1- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.
2- گروه محیط زیست، دانشگاه کالیاری، خیابان بیمارستان 72، کالیاری 09124، ایتالیا.
(*مسئول مکاتبات: Email: ravaghi.maryam@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.61728

بهبود دسترسی زیستی، استراتژی جالبی می‌باشد (Li *et al*., 2015).

سیستم‌های نانو در صورت طراحی مناسب، یک ابزار مهم در بهبود انتقال خوراکی مواد با دسترسی زیستی پایین به‌شمار می‌آیند و در این میان لیپوزوم‌ها به دلیل ایمنی مناسب و کاربردهای متنوع مورد توجه قرار گرفته‌اند. لیپوزوم‌ها دسته‌ای از حامل‌های لیپیدی هستند که از تجمع مولکول‌های آمفی‌فیل در محیط آبی ساخته شده‌اند و با به‌کارگیری انرژی کافی و تحت نیروی برشی، وزیکول‌هایی با غشای دو یا چند لایه تولید می‌کنند (محمد حسنی و همکاران، 1393). لیپوزوم‌ها برخلاف بسیاری از سیستم‌های درون‌پوشانی، با داشتن هر دو فاز آبی و لیپیدی در ساختار خود، می‌توانند جهت درون‌پوشانی ترکیبات آب‌دوست، آب‌گریز و آمفی‌فیل مورد استفاده قرار گیرند (قنبرزاده و همکاران، 1395).

اگرچه انتظار می‌رود درون‌پوشانی کورکومین در وزیکول‌های فسفولیپیدی منجر به تجمع این ماده در روده و برهمکنش با مخاط آن شود اما چنین سیستمی به دلیل تخریب فسفولیپیدها در شرایط گوارشی به تنهایی نمی‌تواند پایداری این ماده را تضمین کند (Rowland and Woodley, 1980; Liu *et al*., 2015). Li و همکاران (2012) از لیپوزوم‌های پوشش یافته با سیلیکا جهت مصرف خوراکی و افزایش پایداری در شرایط سخت گوارشی استفاده کردند. حضور پلیمر در اطراف سطح لیپوزوم نقشی کلیدی در افزایش پایداری چنین لیپوزوم‌هایی داشت. Chen و همکاران (2012) نیز با به‌کارگیری پلیمر تری‌متیل‌کیتوزان روی سطح لیپوزوم‌ها توانستند پایداری و دسترسی زیستی کورکومین را افزایش دهند. در هر دو پژوهش ذکر شده، از حلال آلی و روش‌های چند مرحله‌ای پیچیده استفاده شده است. اتصال مناسب فسفولیپیدها با پلیمرهای مقاوم به شرایط گوارشی، باعث حفاظت از وزیکول‌ها و بهبود دسترسی زیستی ماده مورد نظر می‌شود. سدیم هیالورونات یک پلیمر آنیونی است که می‌تواند موجب تثبیت لیپوزوم‌ها و بهبود پایداری آنها گردد. سدیم هیالورونات قابلیت حل شدن بالایی در آب دارد و زنجیره‌های اسیدی آن در pHهای بالاتر از 3، یونیزه شده و برهمکنش بین مولکولی قوی ایجاد می‌کند (Manca *et al*., 2015). اودراجیت S100 و L100 نیز کوپلیمرهای بر پایه متاکریلیک اسید و متیل متاکریلات هستند که در سیستم‌های دارورسانی به روده بر پایه تغییرات pH کاربرد دارند (Tarcha, 1990).

در سال‌های اخیر تحقیقات گسترده‌ای جهت استفاده از نانولیپوزوم‌ها در صنعت غذا با هدف غنی‌سازی اجزای زیست‌فعال صورت گرفته است؛ از این رو، هدف از پژوهش حاضر، توسعه فرمولاسیون لیپوزوم‌ها با به‌کارگیری مواد مناسب همچون هیالورونان و اودراجیت و همچنین بهبود روش تولید، متناسب با مواد به‌کار گرفته شده جهت درون‌پوشانی کورکومین بود به نحوی که محصول تولیدی بتواند ضمن تولید وزیکول‌هایی با فاکتورهای ابعادی مناسب، بازده درون‌پوشانی بالا و پایداری مطلوب داشته باشد.

مواد و روش‌ها

P90G (فسفولیپون 90 جی) با 94% فسفاتیدیل کولین سویا و S75 با 70% فسفاتیدیل کولین سویا (Lipoid GmbH, Ludwigshafen, Germany)، سدیم هیالورونات یا هیالورونان با وزن مولکولی پایین (400-200 کیلودالتون) (DSM Nutritional Products AG Branch Pentapharm Aesch, Switzerland)، اودراجیت S100 و L100 با وزن مولکولی تقریبی 125 کیلودالتون (Evonik Industries AG, Darmstadt, Germany)، کورکومین و سایر مواد (Sigma-Aldrich, Milan, Italy) تهیه گردید.

آماده‌سازی نمونه‌ها

1- اثر نوع فسفولیپید: در ابتدا فسفولیپید (P90G یا S75) و کورکومین (20 میلی‌گرم) به دقت وزن شد و پس از افزودن 2 میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده، تحت تیمار اولتراسوند (Soniprep 150 plus, MSE Crowley, UK) به‌صورت 50 چرخه (5 ثانیه پالس روشن و 5 ثانیه پالس خاموش) قرار گرفت.

2- اثر هیالورونان: فسفولیپید انتخاب شده از بررسی اولیه همراه با کورکومین (20 میلی‌گرم) و هیالورونان (5 میلی‌گرم) به دقت وزن شد و سپس 2 میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده به آن اضافه شد تا اثر هیالورونان بر ویژگی لیپوزوم مورد بررسی قرار گیرد.

3- اثر اودراجیت: اودراجیت پلیمری مقاوم به شرایط گوارشی است و افزودن آن به فرمول مناسب جهت بهبود پایداری لیپوزوم‌ها ضروری است. اودراجیت ترکیبی نامحلول در آب است؛ از این رو به منظور به‌کارگیری این ماده، از اتانول جهت حل کردن و پخش یکنواخت آن در میان سایر اجزاء استفاده شد. کورکومین (100 میلی‌گرم) و هیالورونان (50 میلی‌گرم) با 10 میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده کاملاً مخلوط شد (دیسپرسیون 1). کورکومین (100 میلی‌گرم) و اودراجیت (250 میلی‌گرم) در 10 میلی‌لیتر اتانول حل شد (دیسپرسیون 2). 1 میلی‌لیتر از دیسپرسیون 1 و دیسپرسیون 2 به فسفولیپید توزین شده اضافه شد و تحت تیمار اولتراسوند به‌صورت 25 چرخه (5 پالس روشن و 5 پالس خاموش) قرار گرفت. جهت خروج اتانول و ادامه مراحل تولید، این مخلوط در دمای 80- درجه سانتی‌گراد منجمد شد و طی 24 ساعت در فشار 0 میلی‌متر جیوه توسط خشک‌کن انجمادی (FDU-8606, Operon Co, Korea) به پودر تبدیل شد. هر نمونه توسط 2 میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده آب‌گیری شد و به منظور کاهش و یکنواخت‌سازی اندازه وزیکول‌ها تحت تیمار اولتراسوند به صورت 50 چرخه (5 ثانیه پالس روش و 5 ثانیه پالس خاموش) قرار گرفت. نوع و مقدار مواد مصرفی

فرمولاسیون کلیه نمونه‌های لیپوزومی در جدول 1 آورده شده است.

جدول1- فرمولاسیون نمونه‌های لیپوزومی

نوع فسفولیپید	مقدار فسفولیپید (میلی‌گرم)	کورکومین (میلی‌گرم)	هیالورونان (میلی‌گرم)	نوع اودراجیت	مقدار اودراجیت (میلی‌گرم)	مقدار آب (میلی‌لیتر)
S75	360	20	-	-	-	2
P90G	360	20	-	-	-	2
انتخابی	360	20	5	-	-	2
انتخابی	360	20	5	S100	25	2
انتخابی	360	20	5	L100	25	2

آنالیز اندازه ذرات، شاخص پراکندگی[1] و پتانسیل زتا

اندازه، توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا نمونه‌های نیوزومی توسط روش تفرق نور دینامیک[2] در دمای 25 درجه سانتی‌گراد تعیین شد. توزیع اندازه ذرات توسط شاخص پراکندگی اندازه‌گیری گردید. نمونه‌ها طی رقیق‌سازی 100 میکرولیتر از دیسپرسیون لیپوزومی توسط 10 میلی‌لیتر آب مقطر در کوت مخصوص دستگاه ریخته شد و اندازه، شاخص چنداندازگی و پتانسیل زتا مورد بررسی قرار گرفتند (Gurrapu *et al.*, 2012).

میکروسکوپ الکترونی عبوری برودتی[3]

دو نمونه لیپوزومی تولید شده با اودراجیت S100 و L100 پس از بررسی و انتخاب اولیه جهت بررسی تشکیل لیپوزوم‌ها، اندازه و مورفولوژی وزیکول‌ها توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری برودتی مورد ارزیابی قرار گرفت. لایه نازکی از نمونه روی گرید کربنی قرار گرفت و توسط غوطه‌وری در اتانول (رطوبت 100% و دمای اتاق) و باقیماندن در نقطه ذوب با استفاده از ویتروبوت[4] (FEI Company, Eindhoven, the Netherlands) به حالت شیشه‌ای تبدیل شد. این لایه شیشه مانند به دستگاه Tecnai F20 TEM (FEI Company) منتقل و تصویر میکروسکوپی با ولتاژ 200 کیلو ولت و دمای تقریبی 173- درجه سانتی‌گراد با شرایط تصویربرداری دوز پایین توسط دوربین CCD Eagle (FEI Company) تهیه گردید.

بازده درون‌پوشانی

بازده درون‌پوشانی پس از جداسازی کورکومین آزاد از دیسپرسیون لیپوزومی توسط روش دیالیز تعیین گردید (Muzzalupo *et al.*, 2013). غشا دیالیز با قدرت جداسازی[5] 14-12 کیلودالتون و اندازه منافذ 3 نانومتر (Spectrum Laboratories Inc., DG Breda, the Netherlands) در دمای اتاق به مدت یک ساعت در آب خیسانده شد. قطعه‌ای از غشا دیالیز به اندازه 10 سانتی‌متر بریده و سپس یک سر آن با گیره مخصوص بسته شد. 1 میلی‌لیتر از فرمولاسیون لیپوزومی تولید شده با اودراجیت S100 و L100 داخل غشا ریخته شد و پس از بستن سر دیگر توسط گیره مخصوص وارد 2/5 لیتر آب شد و به مدت 4 ساعت توسط همزن مغناطیسی در دمای محیط همزده شد. آب مورد استفاده هر ساعت تعویض و در مجموع 10 لیتر آب مورد استفاده قرار گرفت. پس از طی زمان لازم و باز کردن یکی از گیره‌های غشا دیالیز، 100 میکرولیتر از نمونه وارد میکروتیوب شد و به آن 900 میکرولیتر متانول جهت تخریب لیپوزوم‌ها اضافه گردید. نمونه حاصل به مدت یک ساعت با سرعت 10000 rpm سانتریفوژ شد و غلظت کورکومین پس از رقیق‌سازی به روش اسپکتروفوتومتری (Lambda 25, Perkin Elmer, USA) در طول موج 424 نانومتر و پس از ترسیم منحنی کالیبراسیون با رقت‌های مختلف تعیین گردید. بازده درون‌پوشانی مطابق رابطه 1 محاسبه شد (Abd-Elbary *et al.*, 2008).

$$EE\ (\%) = \frac{C_e}{C_t} \times 100 \qquad (1)$$

در این رابطه EE بازده درون‌پوشانی، C_e کورکومین درون‌پوشانی شده توسط لیپوزوم و C_t کورکومین کل است.

اثر شرایط گوارشی مشابه معده و روده

اندازه، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و بازده درون‌پوشانی نمونه‌های تولید شده با اودراجیت S100 و L100 توسط رقیق‌سازی نمونه (1:100 حجمی/ حجمی) و نگهداری در pH=2 به مدت 2 ساعت و pH=7 به مدت 6 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و کلرید سدیم 0/3 مولار (جهت افزایش قدرت یونی محیط) تعیین گردید. این پارامترها بلافاصله پس از رقیق‌سازی و پس از 2 یا 6 ساعت نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفتند.

1 Polydispersity index (PDI)
2 Dynamic Light Scattering (DLS)
3 Cryo-TEM
4 Vitrobot
5 Cut off

پایداری طی زمان

نمونه‌های تولید شده با اودراجیت S100 و L100 به مدت یک ماه در شیشه‌های قهوه‌ای رنگ در دمای یخچال (4 درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و پس از این مدت از نظر اندازه، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و بازده درون‌پوشانی ارزیابی شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج به‌صورت میانگین سه تکرار انحراف معیار گزارش شد و تحلیل و ارزیابی داده‌ها با استفاده از مدل خطی نرم‌افزار آماری SAS 9.1 در سطح احتمال 5% انجام شد. تست t و آزمون چنددامنه‌ای دانکن جهت تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها صورت گرفت.

نتایج و بحث

جدول 1 اثر نوع فسفولیپید، افزودن هیالورونان و اودراجیت بر ویژگی لیپوزوم‌های تولیدی شامل؛ اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا را نشان می‌دهد.

جدول1- اثر نوع فسفولیپید، افزودن هیالورونان و نوع اودراجیت بر اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا

فرمولاسیون	فسفولیپید	فسفولیپید (mg)	هیالورونان (mg)	اودراجیت	وضعیت	قطر (nm)	شاخص پراکندگی	پتانسیل زتا (mv)
1	S75	360	-	-	ژل	-	-	-
2	S75	300	-	-	دیسپرسیون غیرشفاف	470±40^{a}	0/62±0/05^{a}	-45/9±2/2^{b}
3	P90G	360	-	-	دیسپرسیون غیرشفاف	130±10^{d}	0/17±0/03^{c}	-33/6±2/8^{a}
4	P90G	360	5	-	دیسپرسیون غیرشفاف	313±36^{c}	0/36±0/03^{b}	-31/6±1/1^{a}
5	P90G	360	5	S100	دیسپرسیون غیرشفاف	287±31^{c}	0/30±0/03^{b}	-30/8±1/5^{a}
6	P90G	360	5	L100	دیسپرسیون غیرشفاف	407±33^{b}	0/35±0/03^{b}	-32/3±1/7^{a}

داده‌ها به صورت میانگین سه تکرار± انحراف معیار گزارش شده‌اند. در هر ستون، حروف متفاوت نشان‌دهنده اثر معنی‌دار بین داده‌ها است (P<0/05).

بررسی اثر نوع فسفولیپید در نمونه‌های 1، 2 و 3 نشان داد که P90G با 94% فسفاتیدیل کولین سویا و حضور ناخالصی‌های کم‌تر، لیپوزوم‌هایی با اندازه کوچک‌تر، توزیع اندازه یکنواخت تر و قدر مطلق پتانسیل زتا کم تر در مقایسه با S75 با70% فسفاتیدیل کولین سویا تولید کرد (P<0/05). وجود ناخالصی در S75 باعث شد تا بکارگیری آن در غلظتی مشابه P90G موجب تولید ژل شود. رقیق سازی این ژل لیپوزوم‌هایی با میانگین قطر بسیار بزرگ (بیش از 1 میکرومتر) و توزیع اندازه ذرات غیر یکنواخت (شاخص پراکندگی=1) ایجاد کرد. از آن جایی که تولید ژل، هدف پژوهش مورد نظر نبود، نمونه 1 حذف گردید و مقادیر کم‌تر از این نوع فسفولیپید (نمونه 2) مورد آزمون قرار گرفت. یکی دیگر از اهداف این مطالعه، به‌کارگیری برخی افزودنی‌ها جهت تولید لیپوزوم‌هایی پایدار در برابر شرایط سخت گوارشی بود؛ بدین ترتیب نمونه شماره 3 با ابعاد بسیار کوچک (10-130 نانومتر) و شاخص پراکندگی کم (0/03-0/17) این امکان را فراهم آورد تا حتی در صورت افزایش مقادیر این ویژگی‌ها با به‌کارگیری افزودنی‌ها، باز هم لیپوزوم‌هایی با فاکتورهای ابعادی مناسب تولید شود، از این رو نمونه 3 در مقایسه با نمونه 2 جهت بررسی‌های بیشتر انتخاب شد.

نتایج حاصل از بررسی نمونه حاوی هیالورونان (نمونه 4) نسبت به نمونه فاقد این ماده (نمونه 3) نشان داد که افزودن هیالورونان به‌طور معنی‌داری باعث افزایش اندازه (36-313 نانومتر) و شاخص پراکندگی (0/03-0/36) گردید (P<0/05). نتایج این پژوهش با نتایج Catalan-Latorre و همکاران (2016) مطابقت داشت. این محققان گزارش کردند، افزودن هیالورونان به شدت بر اندازه لیپوزوم‌ها تأثیرگذار است و منجر به افزایش اندازه می گردد.

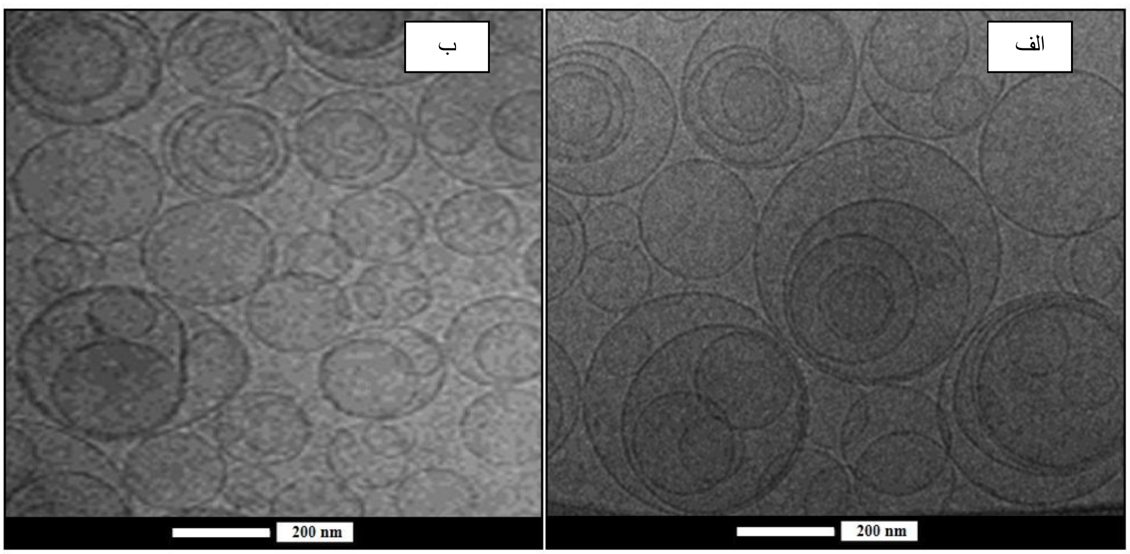
اودراجیت یک ماده کم‌محلول در آب است و افزودن آن به‌طور مستقیم به فرمولاسیون لیپوزومی منجر به تولید وزیکول‌هایی بسیار بزرگ (قطر بیش از 800 نانومتر) و با توزیع اندازه غیریکنواخت (شاخص پراکندگی بیش از 0/80) شد؛ بدین‌ترتیب ابتدا اودراجیت همراه با کورکومین در اتانول حل شد و سپس با دیسپرسیون کورکومین و هیالورونان در آب مخلوط شد. دیسپرسیون تولیدی به این روش یکنواخت بوده و حضور تجمعات یا رسوبی در آن مشاهده نگردید. به دلیل حضور حلال در این روش و نقش تخریبی اتانول بر لیپوزوم‌ها، حلال با استفاده از خشک‌کن انجمادی خارج شد و پودر تولیدی جهت تولید لیپوزوم‌ها مجدد آب‌گیری شد. لیپوزوم‌های تولید شده با اودراجیت S100 (نمونه 5) از نظر اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا تفاوت معنی‌داری در مقایسه با نمونه فاقد اودراجیت (نمونه 4) نداشتند (P>0/05) اما نمونه حاوی اودراجیت L100 (نمونه6) به‌طور معنی‌داری باعث تولید لیپوزوم‌هایی با اندازه بزرگ‌تر (407±33) در مقایسه با نمونه 4 و 5 شد (P<0/05). نتایج این پژوهش با نتایج Karn و همکارانش (2011) که نشان دادند افزودن

اودراجیت L100 به لیپوزوم‌ها منجر به افزایش اندازه می‌گردد، مطابقت داشت.

پتانسیل زتا تفاوت پتانسیل لایه لغزنده روی سطح وزیکول و محیط اطراف آن را نشان می‌دهد و به‌عنوان پارامتری مهم جهت ارزیابی بار سطحی لیپوزوم‌ها و در نتیجه پایداری آنها در برابر تجمع محسوب می‌شود. به‌طور کلی دیسپرسیون‌های لیپوزومی با پتانسیل زتا 30± یا بیشتر به‌عنوان نمونه‌های پایدار در نظر گرفته می‌شوند (Sezgin-Bayindir *et al.*, 2015)؛ بدین ترتیب تمام نمونه‌های تولید شده پتانسیل زتای مناسبی داشتند و افزودن هیالورونان و اودراجیت اثر معنی‌داری بر این ویژگی لیپوزوم‌ها ایجاد نکرد ($P>0/05$).

میکروسکوپ الکترونی عبوری برودتی

شکل 1 تصویر میکروسکوپی نمونه‌های لیپوزومی تولید شده با اودراجیت L100 و S100 توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری برودتی را نشان می‌دهد. بررسی میکروسکوپی نمونه‌ها تأییدکننده تشکیل لیپوزوم‌ها پس از آب‌گیری نمونه‌ها بود. وزیکول‌های تولید شده، کروی یا بیضی شکل بودند و ابعاد متفاوتی داشتند. نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپ الکترونی عبوری با نتایج به‌دست آمده از دستگاه تفرق نور دینامیک، هم‌خوانی داشت و نمونه حاوی اودراجیت L100 (شکل 1- الف) دارای ابعاد بزرگ‌تر و غیریکنواخت‌تری در مقایسه با نمونه حاوی S100 (شکل 1- ب) بود؛ به‌علاوه اگرچه میانگین اندازه وزیکول‌ها در نمونه S100 حدود 300 نانومتر و در L100 حدود 400 نانومتر بود اما به دلیل شاخص پراکندگی حدود 0/3، تا حدی غیریکنواختی در ابعاد خصوصاً در نمونه L100 مشاهده شد. لیپوزوم‌های تولید شده جزء وزیکول‌های چندلایه یا وزیکول‌های تک لایه بزرگ بودند که برخی از آنها در درون خود وزیکول‌های کوچک دیگری را محبوس کرده بودند.

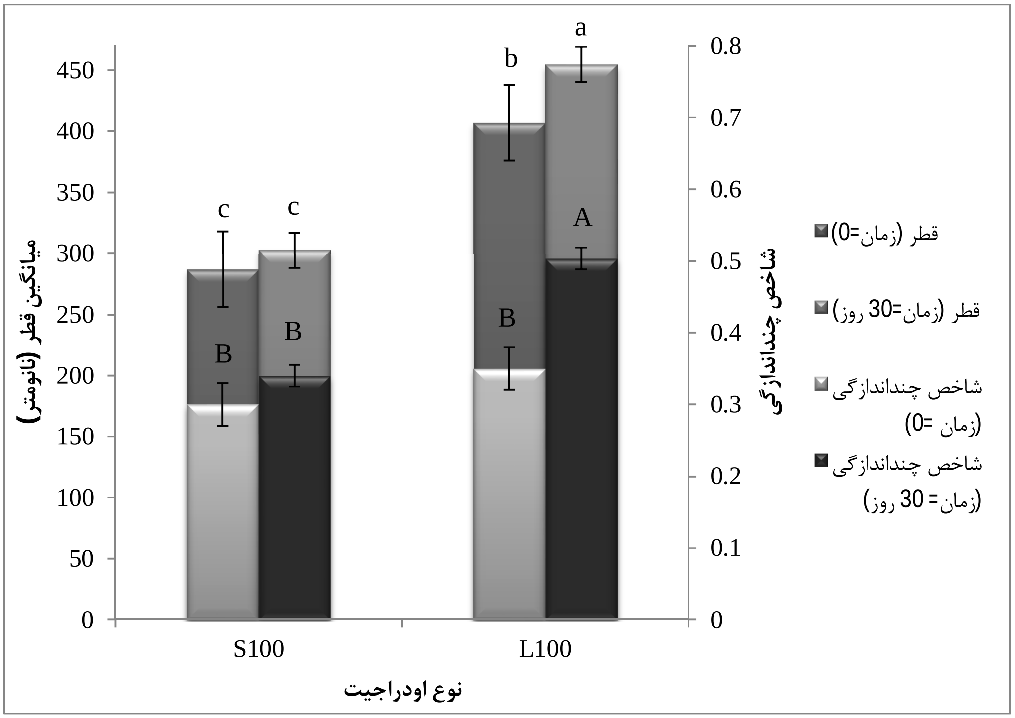


شکل 1- تصویر حاصل از دستگاه میکروسکوپ الکترونی عبوری برودتی نمونه‌های لیپوزومی تولید شده با اودراجیت L100 (الف) و S100 (ب)

پایداری طی زمان

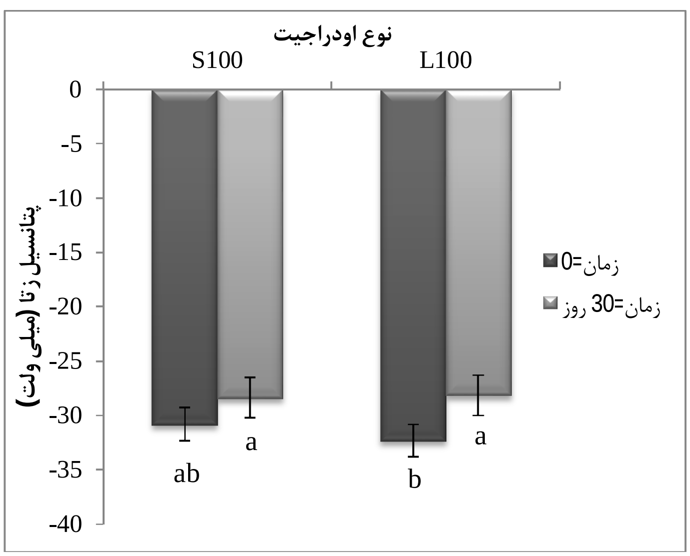
نتایج حاصل از بررسی اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا دیسپرسیون‌های لیپوزومی تولید شده با اودراجیت L100 و S100 بلافاصله پس از تولید و پس از 30 روز نگهداری در یخچال در شکل 2 و 3 نشان شده است. نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری در اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا در نمونه حاوی اودراجیت S100 بلافاصله پس از تولید و پس از 30 روز نگهداری وجود نداشت، در حالی‌که نمونه حاوی اودراجیت L100 طی 30 روز نگهداری تغییرات معنی‌داری در پارامترهای اندازه‌گیری شده نشان داد و بزرگ‌ترین اندازه (11±455 نانومتر) و شاخص پراکندگی (0/02±0/50) را دارا بود ($P<0/05$)؛ بدین ترتیب نمونه تولید شده با اودراجیت S100 به‌عنوان نمونه مطلوب مطرح گردید. هرچه اندازه وزیکول‌ها کوچک‌تر باشد، سطح خارجی بیشتری جهت توزیع بار فراهم می‌آورند؛ بدین ترتیب با افزایش اندازه نمونه‌ها طی 30 روز نگهداری، قدر مطلق پتانسیل زتا به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$). از طرف دیگر پتانسیل زتا خود با ایجاد دافعه بین وزیکول‌ها مانع از ادغام آنها، افزایش اندازه و مشکلات مرتبط با ناپایداری‌گردید و در حقیقت نوعی رابطه دو جانبه بین این پارامترها وجود داشت. Manca و همکارانش (2015) دریافتند که به‌کارگیری سدیم هیالورونات در تولید لیپوزوم‌ها،

منجر به تولید محصولی با تغییرات بسیار انـدک در قطـر و شـاخص پراکندگی طی 30 روز نگهداری می‌شود و این یافته‌ها مطابقت بالایی با نتایج حاصل از به‌کارگیری هم‌زمان سدیم هیالورونات و اودراجیت S100 که در این پژوهش حاصل شد، داشت.



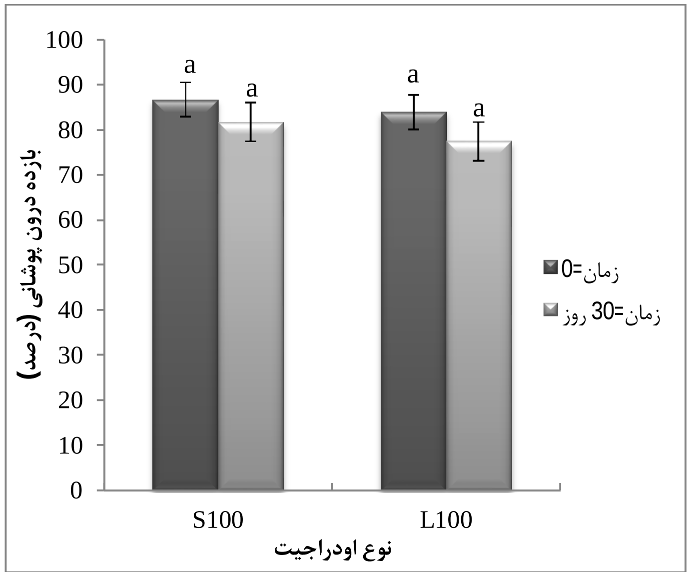
شکل2- اندازه و شاخص پراکندگی دیسپرسیون‌های لیپوزومی تولید شده با اودراجیت L100 و S100 بلافاصله پس از تولید و پس از 30 روز نگهداری

حروف متفاوت نشان‌دهنده اثر معنی‌دار بین داده‌ها است (P<0/05).



شکل3- پتانسیل زتا دیسپرسیون‌های لیپوزومی تولید شده با اودراجیت L100 و S100 بلافاصله پس از تولید و پس از 30 روز نگهداری

حروف متفاوت نشان‌دهنده اثر معنی‌دار بین داده‌ها است (P<0/05).



شکل 4- بازده درون‌پوشانی فرمولاسیون‌های حاوی اودراجیت S100 و L100 بلافاصله پس از تولید و پس از 30 روز نگهداری

حروف یکسان نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین داده‌ها است (P>0/05).

بازده درون‌پوشانی یکی از پارامترهای مهم در ارزیابی فرمولاسیون‌های لیپوزومی است و توانایی یک فرمولاسیون جهت حفظ مولکول‌های مشخص در غشاهای دو لایه یا هسته مرکزی وزیکول را نشان می‌دهد (Aboelwafa *et al*., 2010; Tavano *et al*., 2014). دو نمونه تولید شده با اودراجیت S100 و L100 از نظر درصد بازده درون‌پوشانی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها از نظر بازده درون‌پوشانی بلافاصله پس از تولید و پس از 30 روز نگهداری وجود نداشت (P>0/05). بازده درون‌پوشانی بیش از 80 درصد در نمونه‌های تولید شده بیانگر توانایی بارگذاری مطلوب و حفظ مولکول‌های آبگریز کورکومین بود (شکل 4). ارتباط مؤثر هیالورونان و اودراجیت باعث حفظ وزیکول‌های چند لایه و همچنین وزیکول‌های چند وزیکولی شد و این امر منجر به حفاظت بهتر از کورکومین و تأخیر در آزادسازی این ماده گردید.نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های Manca و همکارانش (2015)که بازده درون پوشانی حدود 80 درصد و با تغییرات محدود را طی 30 روز نگهداری را در مورد هیالوزوم‌های کورکومین گزارش دادند، همخوانی داشت.

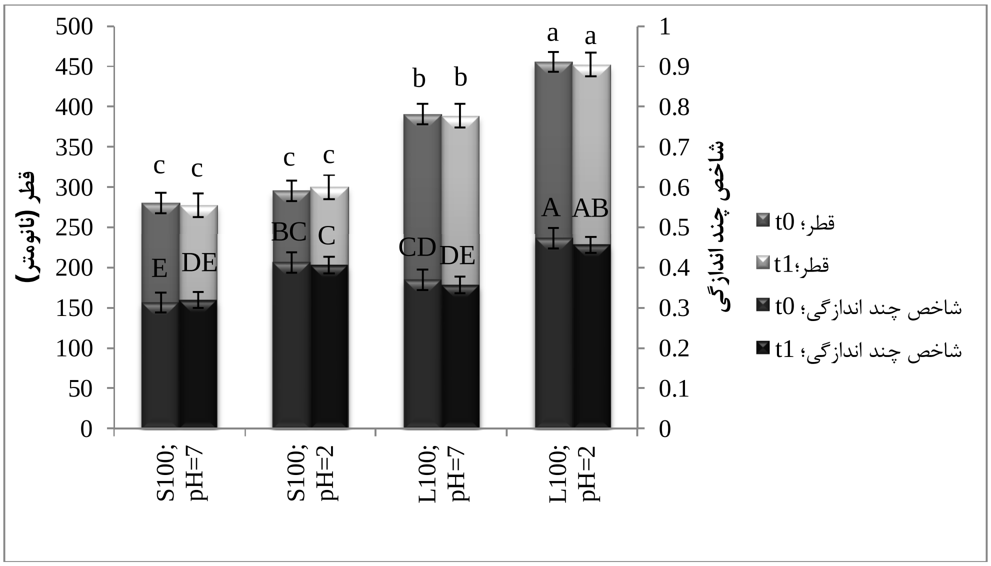
اثر شرایط گوارشی مشابه معده و روده

برهم‌کنش‌های الکترواستاتیک با یون‌های خارجی نقش مهمی در پایداری لیپوزوم‌ها دارند چرا که می‌توانند باعث تغییر اندازه و ساختار و احیاناً تخریب و نشت محتویات شوند. مطالعات فراوانی جهت بررسی اثر شرایط گوارشی مانند pH و قدرت یونی در بررسی پایداری وزیکول‌ها صورت گرفته است (Liu *et al*. 2016). از آنجایی که فرمولاسیون‌های خوراکی در طول دستگاه گوارش در معرض تغییرات قدرت یونی و pH قرار می‌گیرند رفتار دیسپرسیون‌های تولیدی با ارزیابی اندازه، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و بازده درون‌پوشانی در شرایط مشابه انتقال از معده به روده بزرگ با به‌کارگیری دو محیط در pH=2 و pH=7 و قدرت یونی بالا (سیال مشابه معده[6] و سیال مشابه روده[7]) مورد بررسی قرار گرفت (شکل 5 و 6). در هر نمونه تولیدی اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا تغییر معنی‌داری چه در pH اسیدی پس از 2 ساعت و چه در pH خنثی پس از 6 ساعت نسبت به نمونه در زمان صفر نشان نداد (P>0/05)، این امر نشان‌دهنده توانایی لیپوزوم‌ها جهت حفاظت از ساختار خود علی رغم شرایط سخت گوارشی مانند pH و قدرت یونی به دلیل ارتباط مؤثر پلیمرها بود. در pH خنثی که تنها اثر قدرت یونی وجود داشت تنها از پتانسیل زتا نمونه کاسته شد اما تأثیر چندانی در اندازه و شاخص پراکندگی نسبت به نمونه اولیه (بدون اعمال قدرت یونی) مشاهده نشد. نمونه حاوی اودراجیت S100 تغییرات اندازه محدودتری در هر دو pH نشان داد که نشان‌دهنده توانایی وزیکول‌های تولیدی جهت حفظ بهتر ساختار علی رغم قدرت یونی و pH محیط بود.

شکل 7 بازده درون‌پوشانی نمونه‌های تولید شده توسط دو نوع اودراجیت را بلافاصله پس از افزودن سیال مشابه معده و سیال مشابه

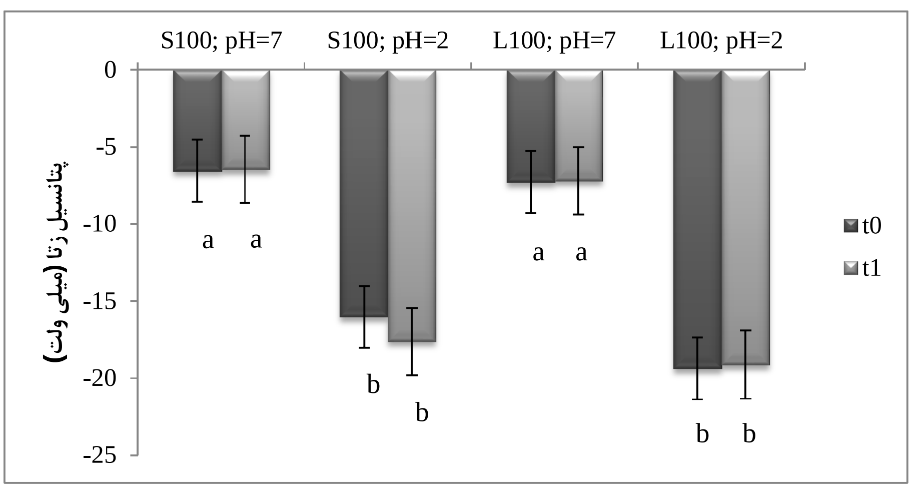
6 Simulated Gastric Fluid (SGF)
7 Simulated Intestinal Fluid (SIF)

روده و پس از طی زمان نشان می‌دهد. نتایج نشان داد شرایط سخت گوارشی اعم از pH و قدرت یونی بر بازده درون‌پوشانی نمونه‌ها خصوصاً نمونه تولید شده با اودراجیت S100 تأثیر معنی‌داری نداشت (P>0/05). به نظر می‌رسد شبکه پلیمری هیالورونان- اودراجیت تولید شده لیپوزوم‌ها را در برابر شرایط سخت گوارشی اعم از pH و قدرت یونی محافظت می‌کند. نتایج این پژوهش با یافته های Barea و همکارانش (2010) که نشان دادند به‌کارگیری اودراجیت S100 در پوشش‌دهی لیپوزوم‌ها منجر به کاهش معنی داری در روند آزادسازی دارو در pH مشابه معده و روده می شود هم‌خوانی داشت. Hosney و همکارانش (2013) نیز به طور موفقیت‌آمیزی از روش پوشش‌دهی نانولیپوزوم‌ها با اودراجیت L100 به منظور افزایش پایداری در برابر شرایط اسیدی معده و بهبود دسترسی بیولوژیکی داروی آلدرونات سدیم استفاده کردند.



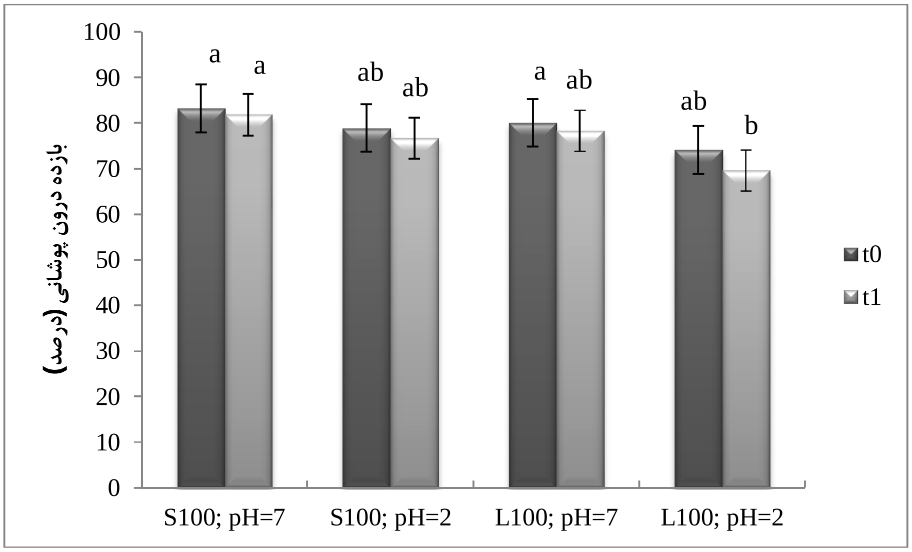
شکل5- اندازه و شاخص پراکندگی دیسپرسیون‌های لیپوزومی تولید شده با اودراجیت L100 و S100 در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در pH=2 و pH=7. اندازه‌گیری در زمان صفر (t_0) و پس از 2 ساعت قرارگیری در pH =2 و 6 ساعت قرارگیری در pH=7 (t_1) انجام شد.

حروف متفاوت نشان‌دهنده اثر معنی‌دار بین داده‌ها است (P<0/05).



شکل6- پتانسیل زتا دیسپرسیون‌های لیپوزومی تولید شده با اودراجیت L100 و S100 در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در pH=2 و pH=7. اندازه‌گیری در زمان صفر (t_0) و پس از 2 ساعت قرارگیری در pH =2 و 6 ساعت قرارگیری در pH=7 (t_1) انجام شد.

حروف متفاوت نشان‌دهنده اثر معنی‌دار بین داده‌ها است (P<0/05).



شکل7- بازده درون‌پوشانی دیسپرسیون‌های لیپوزومی تولید شده با اودراجیت L100 و S100 در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در pH=2 و pH=7. اندازه‌گیری در زمان صفر (t_0) و پس از 2 ساعت قرارگیری در pH =2 و 6 ساعت قرارگیری در pH=7 (t_1) انجام شد.

حروف متفاوت نشان‌دهنده اثر معنی‌دار بین داده‌ها است ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری

در این تحقیق از اودراجیت L100 و S100 که پلیمری مقاوم به شرایط گوارشی است همراه با هیالورونان جهت تثبیت ساختار فسفولیپید، افزایش پایداری لیپوزوم‌ها، بهبود آزادسازی کورکومین در شرایط مشابه روده‌ای و با به‌کارگیری روشی آسان و مقرون به صرفه استفاده شد. از آن‌جایی‌که نگهداری طولانی مدت وزیکول‌ها در دیسپرسیون، یکی از محدودیت‌های مهم در تولید تجاری لیپوزوم‌ها است تولید پودر با استفاده از خشک‌کن انجمادی که به راحتی در موقع لزوم آب‌گیری شود به‌عنوان راه حلی جهت غلبه بر مشکلات ناپایداری مطرح گردید. برهم‌کنش پلیمرهای مورد استفاده با یکدیگر و با فسفولیپید یک شبکه پلیمری ایجاد کرد که در آن لیپوزوم‌ها جاسازی و پایدار شدند. لیپوزوم‌های تولیدی نیز دارای اشکال کروی و بیضی شکل چندلایه یا تک لایه بزرگ بودند که برخی از آنها خود دربرگیرنده چند وزیکول کوچک‌تر بودند. لیپوزوم‌های حاوی اودراجیت S100 در مقایسه با نمونه حاوی اودراجیت L100 اندازه، شاخص پراکندگی و پتانسیل زتا مناسبی بلافاصله پس از تولید و حین نگهداری داشت. ارتباط دو پلیمر هیالورونان و اودراجیت S100 توانست با حفظ ویژگی‌های ابعادی لیپوزوم، منجر به افزایش پایداری وزیکول‌ها در شرایط گوارشی (از نظر pH و قدرت یونی) شود. در شرایط طبیعی چنین لیپوزوم‌هایی این قابلیت را دارند که به‌صورت دست نخورده وارد روده شده و حین عبور از بخش‌های روده به سطح موکوز آن چسبیده و به تدریج محتویات خود را آزاد کنند. علی‌رغم یافته‌های به‌دست آمده در این پژوهش، مطالعات گسترده‌تری برطبق دستورالعمل‌های شورای بین‌المللی تطبیق الزامات فنی داروسازی برای مصارف انسانی و سازمان بهداشت جهانی و همچنین بررسی آزادسازی در موجود زنده بایستی درگام بعدی صورت گیرد.

منابع

Abd-Elbary, A., El-laithy, H.M. & Tadros, M.I., 2008, Sucrose stearate-based proniosome derived niosomes for the nebulisable delivery of cromolyn sodium, *International Journal of Pharmaceutics*, 357, 189-198.

Aboelwafa, A.A., El-Setouhy, D.A. & Elmeshad, A.N., 2010, Comparative study on the effects of some polyoxyethylene alkyl ether and sorbitan fatty acid ester surfactants on the performance of transdermal carvedilol proniosomal gel using experimental design, *AAPS PharmSciTech*, 11(4), 1591-1602.

Barea, M.J., Jenkins, M.J., Gaber, M.H. & Bridson, R.H. 2010. Evaluation of liposomes coated with a pH responsive polymer, *International Journal of Pharmaceutics*, 402 (1-2), 89-94.

Catalan-Latorre, A., Ravaghi, M., Manca, M.L., Caddeo, C., Marongiu, F., Ennas, G., Escribano-Ferrer, E., Peris, J.E., Diez-Sales, O., Fadda, A.M. & Manconi, M., 2016. Freeze-dried eudragit-hyaluronan multicompartment liposomes, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 107, 49-55.

Chen-yu, G., Chun-fen, Y., Qi-lu, L., Qi, T., Yan-wei, X., Wei-na, L. & Guang-xi, Z., 2012, Development of a Quercetin-loaded nanostructured lipid carrier formulation for topical delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, 430, 292-298.

Ghanbarzadeh, B., Pezeshky, A., Hamishehkar, H., & Moghadam, M., 2016, Vitamin A palimitate-loaded nanoliposomes: study of particle size, zeta potential, efficiency and stability of encapsulation, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 12(2), 261-275.

Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F.M. &Torti, S.V., 2008, Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65, 1631-1652.

Hosny, K.M., Ahmed, O.A., & Al-Abdali, R.T. 2013. Enteric-coated alendronate sodium nanoliposomes: a novel formula to overcome barriers for the treatment of osteoporosis, *Expert Opinion on Drug Delivery*, 10, 741–746

Hosseini, F., Habibi Najafi M. B., Hashemi, M., Blourian, S., & Zaman Zade, F., 2011, Evaluation of antimicrobial activities and color strength of curcumin in macaroni, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 7(1): 33-41.

Karn, P.R, Vanić, Z., Pepić, I., & Skalko-Basnet, N. 2011. Mucoadhesive liposomal delivery systems: The choice of coating material, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 37(4), 482-488.

Li, C., Zhang, Y., Su, T., Feng, L., Long, Y. & Chen, Z., 2012, Silica-coated flexible liposomes as a nanohybrid delivery system for enhanced oral bioavailability of curcumin, *International Journal of Nanomedicine*, 7, 5995-6002.

Li, J., Lee, I.W., Shin, G.H., Chen, X. & Park, H.J., 2015, Curcumin-Eudragit E PO solid dispersion: a simple and potent method to solve the problems of curcumin, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 94, 322-332.

Liu, W., Liu, W., Ye, A., Peng, S., Wei, F., Liu, C. & Han, J., 2016, Environmental stress stability of microencapsules based on liposomes decorated with chitosan and sodium alginate, *Food Chemistry*, 196,396–404.

Liu, W., Ye, A., Liu, W., Liu, C., Han, J. & Singh, H., 2015, Behaviour of liposomes loaded with bovine serum albumin during in vitro digestion, Food Chemistry, 175, 16-24.

Maheshwari, R.K., Singh, A.K., Gaddipati, J. & Srimal, R.C., 2006, multiple biological activities of curcumin: a short review, *Life Science*, 78, 2081-2087.

Manca, M.L., Castangia, I., Zaru, M., Nácher, A., Valenti, D., Fernàndez-Busquets, X., Fadda, A.M. & Manconi, M., 2015, Development of curcumin loaded sodium hyaluronate immobilized vesicles (h*yalurosomes*) and their potential on skin inflammation and wound restoring, *Biomaterials*, 71, 100-109.

Gurrapu, A., Jukanti, R., Bobbala, S.R., Kanuganti, S. & Jeevana, J. B., 2012, Improved oral delivery of valsartan from maltodextrin based proniosome powders, *Advanced Powder Technology*, 23, 583-590.

Mohammad Hassani, Z., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., & Rezayi Mokarram, R., 2014, Gamma oryzanol-bearing nanoliposomes: study of FTIR spectrophotometry, vesicle size, ζ-potential, physical stability and steady rheology, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 10(1): 62-75.

Muzzalupo, R., Tavano, L. & La Mesa, C., 2013, Alkyl glucopyranoside based niosomes containing methotrexate for pharmaceutical applications: evaluation of physicochemical and biological properties, I*nternational Journal of Pharmaceutics*, 458, 224- 229.

Patra, D., Ahmadieh, D. & Aridi, R., 2013, Study on interaction of bile salts with curcumin and curcumin embedded in dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine liposome, Colloids and Surfaces B. *Biointerfaces*, 110, 296-304.

Rowland, R.N. & Woodley, J.F., 1980, The stability of liposomes in vitro to pH, bile salts and pancreatic lipase, *Biochimica Biophysica Acta*, 620, 400-409.

Sezgin-Bayindir, Z., Antep, M.N. & Yuksel, N., 2015, Development and characterization of mixed niosomes for oral delivery using candesartan cilexetil as a model poorly water soluble drug, AAPS PharmSciTech, 16(1), 108-117.

Tarcha, P. J., 1990, polymers for controlled drug delivery, *CRC press*, USA, 58-60.

Tavano, L., de Cindio, B., Picci, N., Ioele, G. & Muzzalupo, R., 2014, Drug compartmentalization as strategy to improve the physicochemical properties of diclofenac sodium loaded niosomes for topical applications, *Biomedical Microdevices*, 16, 851-858.

Tayyem, R.F., Heath, D.D., Al-Delaimy, W.K. & Rock, C.L., 2006, Curcumin content of turmeric and curry powders, *Nutrition and Cancer*, 55 , 126-131.

Tizchang, S., Sowti khiabani, M., & Rezaie mokaram, R., 2015, Evaluation of factors affecting at preparation of nanoliposomes containing nisin using Response surface methodology, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11(2), 171-180.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 2, June. July. 2018, p. 399- 410

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 2، خرداد- تیر 1397، ص 410-399

The effect of different Nanoliposomal Formulation on Encapsulation and Stabilization of Curcumin

M. Ravaghi[1*], A. Maria Fadda[2]

Received: 2017.01.10
Accepted: 2017.08.26

Introduction: Curcumin is the main ingredient of turmeric spice, derived from rhizome of the *Curcuma longa*. It is a hydrophobic material with low bioavailability which is rapidly removed from the body due to its instability under physiological conditions and inadequate absorption. Curcumin is a polyphenol and one of the most widely explored natural pharmacological agents in nanomedicine due to its high in vitro activity and low systemic bioavailability in vivo. In recent years, many efforts have been made to increase its therapeutic potential for disease prevention and health promotion, by using specific nano-delivery systems. Delivery and accumulation of curcumin in the intestine may represent an attractive strategy to improve its systemic absorption and bioavailability. The incorporation of curcumin in phospholipid vesicles (liposomes) may modulate its accumulation and be released, but do not improve its stability in the gastrointestinal environment due to the phospholipid degradation. An appropriate combination of phospholipid and polymer may provide a suitable strategy to protect the vesicles, resulting in an amelioration of curcumin intestinal deposition and bioavailability. In the present work, the potential use of Eudragit and hyaluronan to complex phospholipids was investigated, thus forming gastroresistant vesicles able to deliver the curcumin to the low intestine.

Materials and Methods: Soy phosphatidylcholine S75 (purity of 70%) and P90G (purity of 94%) were purchased from Lipoid GmbH (Germany). Sodium hyaluronate or hyaluronan with low molecular weight (200–400 kDa) was purchased from DSM Nutritional Products AG Branch Pentapharm (Switzerland). Eudragit S100 and L100 with molecular weight about 125 kDa were provided by Evonik Industries AG (Germany). Curcumin and other chemicals were analytical grade and procured from Sigma-Aldrich (Italy). This paper was aimed to find a liposome type formulation to immobilize the phospholipid structures, and to protect liposomes and enhance curcumin stability from simulated gastrointestinal conditions. To this purpose, phospholipid (P90G and S75), sodium hyaluronate and Eudragit (S100 and L100) were combined to obtain immobilized liposomes and drug. Liposomes were formed by hydration, combined with sonication using a high intensity ultrasonic disintegrator (Soniprep 150 plus, UK). The average diameter, polydispersity index (PDI) and zeta potential were determined using a Zetasizer nano-ZS (Malvern Instruments, United Kingdom). Entrapment efficiency (EE%) was calculated as the percentage of the drug amount found after dialysis (Spectra/Por® membranes, 12–14 kDa MW cut off, 3 nm pore size, The Netherlands) versus that initially used. Curcumin content was estimated spectrophotometrically at $\lambda max=424$ nm by a Perkin Elmer UV/visible spectrophotometer (Lambda 25, USA) after disruption of liposomes. Vesicle formation and morphology were checked by cryogenic electron transmission microscopy, using a Tecnai F20 TEM (FEI Company, The Netherlands). The average diameter, PDI, zeta potential and EE% of the vesicles produced using Eudragit S100 and L100 were measured after 1 month incubation at 4°C to determine their stability. Vesicle behaviour was also measured in fluids at pH 2 and 7 and high ionic strength immediately after dilution, at 2h and 6 h. Data are expressed as mean±standard deviation (n=3 independent samples). Analysis of the data was made using SAS statistical software (version 9.0). Comparison among the means was carried out by Duncan's multiple range test at $p<0.05$ as a minimal level of significance.

Results and discussion: P90G produced liposomes of smaller size (130±10 nm) with less PDI value (0.17±0.03) than S75 while addition of hyaluronan and Eudragit increased these parameters significantly. Eudragit S100 and L100 are anionic copolymers able to form effective and stable enteric coatings with fast dissolution in the upper bowel. Unfortunately, Eudragit L100 and S100 are poorly soluble in water and when added to the phospholipid and curcumin, the resulting vesicles were large (>800 nm) and polydispersed (>0.8). In this work, the Eudragit was dispersed in ethanol with the curcumin, leading to a homogeneous, yellow

1. Young Researchers and Elite Club, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
2. Deptartment of Scienze Della Vita e dell'Ambiente, University of Cagliari, via Ospedale 72, 09124 Cagliari, Italy.
(*Corresponding author: E-mail addresses: Ravaghi.maryam@gmail.com)

transparent solution, and the curcumin and hyaluronan were dispersed in water. After freeze drying and rehydration with water, the vesicle size and polydispersity decreased, leading to the formation of more suitable systems. Liposomes of Eudragit were spherical or oval, multi-lamellar or large uni-lamellar vesicles with some smaller vesicles inside. These liposomes had high entrapment efficiency (>80%) immediately after production without significant decrease after storage. Liposomes of Eudragit S100 had smaller vesicles (287±31 nm) compared to those of Eudragit L100 (407±33 nm) after preparation Moreover, vesicles containing Eudragit S100 showed better stability during storage. Immobilization of liposomes in polymeric network of hyaluronan-Eudragit increased their stability against the mimicking conditions of gastrointestinal tract such as high ionic strength and pH variation. The present study indicated that the combination of P90G, Eudragit S100 and hyaluronan results in the production of innovative delivery systems with suitable dimensions and adequate stability, capable of protecting the curcumin from the pH variation during the stomach to colon transit, and favoring the local accumulation of the drug. Finally, a more detailed research according to ICH and WHO guidelines should be performed in a more advanced development step.

Keywords: Curcumin, Eudragit, Liposome.